

### III. 分担研究報告

牛肉の STEC 汚染リスク低減に関する研究

研究分担者 工藤由起子

国立医薬品食品衛生研究所

衛生微生物部

令和 2～4 年度 厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)  
動物性食品輸出の規制対策のための研究  
研究代表者 穠山 浩 (星薬科大学)

分担研究報告書

牛肉の STEC 汚染リスク低減に関する研究  
研究分担者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

牛肉の STEC 汚染リスク低減のための研究を実施した。1. 牛枝肉の STEC 調査では、2020 年 10 月から 2023 年 1 月に食肉検査所（生菌数のみ測定のみ 1 ヶ所を除く 11 ヶ所）の協力のもとに牛枝肉合計 480 検体から 7 血清群（026、045、0103、0111、0121、0145、0157）の STEC を対象とした試験を行った。この結果、3 検体(0.6%)から STEC 0157 が分離され、その汚染は低率であるものの牛肉の取り扱いには十分な注意が必要であることが明らかとなった。また、さらなる汚染低減にその制御法の確立が求められる。また、2. 牛肉の消毒効果の検討では、一般に使われている酸性、アルカリ性および中性の消毒薬、ならびに有機酸から 6 種類を選定し、牛肉での STEC の消毒効果を検証した。その結果、消毒液によっては使用量を増やすことや濃度を高めることによって STEC の減少効果が認められた。また、消毒後の滅菌水洗浄は消毒液の酸臭の軽減対策として有効であった。これらの結果から牛肉の消毒に有用な消毒薬として、過酢酸があげられ、55℃に加温しての使用や消毒後の洗浄によって酸臭を軽減することで現実的に使用できると考えられる。

研究協力者 (\*牛枝肉の STEC 調査研究について)

北海道保健福祉部健康安全局食品衛生課*	島田光平、豊岡大輔
北海道東藻琴食肉衛生検査所*	児山綾子
北海道早来食肉衛生検査所*	石田祥士
北海道帯広食肉衛生検査所*	吉田千央、鈴木竹彦、笹谷優子、鈴木 綾
十和田食肉衛生検査所検査第二課*	東海林明子
十和田食肉衛生検査所検査第三課*	高橋むつみ
秋田市食肉衛生検査所*	山口健一
熊本県食肉衛生検査所*	大迫英夫
岐阜県飛騨食肉衛生検査所*	塚本真由美、荻谷俊宏、山崎翔矢
宮崎県都農食肉衛生検査所*	黒木麻衣
徳島県食肉衛生検査所*	片山直人、飛梅三喜
佐賀県食肉衛生検査所*	瀧下恵里子、大澤加奈子
長崎県諫早食肉衛生検査所*	樋渡佐知子、松尾保雄
国立医薬品食品衛生研究所	廣瀬昌平、千葉由美、都丸亜希子、池内隼佑

## A. 研究目的

昨今の海外での和牛の需要の高まりや日本政府および業界関係者による和牛輸出促進の影響のため、海外への和牛輸出量が増加している。特に、米国への輸出は2005年から解禁されているが、近年、米国では腸管出血性大腸菌（志賀毒素産生性大腸菌 *Shiga toxin-producing Escherichia coli*; STEC）食中毒防止対策のひとつとして牛肉のSTEC検査を行い、検出した関連製品については米国向けに輸出ができないため、現在は国内の加熱加工原料向けに転用している。和牛は畜産食品のなかでも単価の高い高級食材であり、国内に限られた数の対米輸出食肉取扱施設でのと畜、食肉処理による生産量を考えると、加熱加工原料のみならず、効果的な殺菌方法による食中毒の発生予防措置をとった上で、加熱加工原料用以外の転用を可能にすることは、国内生産者や食肉処理関係者の継続的な生産・関連業務にもつながることが期待される。

令和2から4年度に、国内食肉処理施設において、牛枝肉表面のSTECについて定性的・定量的検出を行った。方法としては、USDA/FSISの試験法を参考に志賀毒素遺伝子・大腸菌O抗原遺伝子検出のスクリーニングを行い、分離株の血清型別、毒素型別等の解析を行うこととした。

また、各種消毒液および消毒方法について、牛肉でのSTECの消毒効果の検証し、肉表面の変色や消毒薬由来の臭味を含め、実用的な消毒方法を検討した。

## B. 研究方法

### 1. 牛枝肉のSTEC調査

2020年10月から2023年1月に国内の食肉検査所12ヶ所（A-N、表1-1）にて、ウシ504頭からサンプリングを行った（表1-2）。なお、N施設からの検体（24検体）では、生菌数測定のみを実施した。と畜場での検体の採取は、処理された異なるウシ3頭か

ら枝肉を各1本ずつ選定し、選定した枝肉ごとに頸部から胸部の任意の3箇所を選び、滅菌リン酸緩衝生理食塩水（PBS）で浸漬した滅菌ガーゼ（30 cm×30 cm）を密着させることによって行った。定性的な検出は下記のように行った。検体は、試験に使用するまで冷蔵保管し、ガーゼの入ったサンプリングバッグにModified tryptone soya broth（mTSB）を250 mL加えた。この検体液の一部を10倍階段希釈にて適宜希釈し、生菌数測定を行った。また、検体液の一部を定量試験用に冷蔵保管した。残りの検体液はサンプリングバッグのまま、42±1℃で15-24時間培養を行った。この培養液からDNAアルカリ熱抽出を行い、このDNA抽出液をSTEC 7血清群のマルチプレックスリアルタイムPCRのテンプレートとして用いた。このリアルタイムPCRは、USDA: USDA, Laboratory Guidebook, MLG 5C Appendix 4.01. ならびに EFSA: EFSA Journal. 11:3138、2013の方法を用いて行った。リアルタイムPCRの結果、*stx* および *eae* 遺伝子陽性の検体は、続けてSTEC 7血清群O遺伝子を試験した。STEC 7血清群陽性の検体は、陽性となったO血清群について免疫磁気ビーズ 026、045、0103、0111、0121、0145、0157「生研」（デンカ株式会社）を用いて免疫磁気ビーズ法によるこれら7血清群の濃縮を行った。ビーズ濃縮液を酸処理または希釈して選択培地に塗抹した。選択培地上に発育した疑わしいコロニーについては、STEC 7血清群をリアルタイムPCRにより判定を行った。STEC分離株のO血清群は、病原大腸菌免疫血清「生研」（デンカ株式会社）または市販のラテックス凝集試薬を用いて判定した。STEC 7血清群に判定された菌株については、H血清群を抗血清およびH-genotypingを用いて決定した。なお、これら以外についてはO血清群を抗血清およびO-genotypingにて決定した。STEC 7血清群が陽性となった検体については、冷蔵保存しておいた検体液

を最確数法（MPN、3 本法）にて同様の培地を用いて定量試験を行った。

## 2. 牛肉の消毒効果の検討

### （1）文献調査

牛屠体の消毒として使う方法のうち科学的な根拠がある方法を調べることを目的として、Carcasses、Dressed Cattle、Block Meat、Disinfection、Decontamination、Disinfectants、acids、hot water、steam、Microorganisms、bacteria、*E. coli*、STEC をキーワードとして、PubMed で文献調査を行った。

### （2）菌株

国立医薬品食品衛生研究所で保有している STEC 血清群 026、0103、0111 および 0157 の各菌株を供試した。

### （3）牛肉検体

牛肉は、小売店から購入したブロック肉を用いた。牛肉表面の筋膜をつけたままの検体（筋膜あり）および筋膜を取り除いた検体（筋膜なし）は、クリーンベンチ内で厚さ約 1 cm、約 5 cm 角（約 25 g）に無菌的に切り分けて作製し、冷凍保存した。使用する前に 4℃に戻して供試した。

### （4）接種菌液の調製

半流動性のカジトン培地に室温保存されている菌株を、10 mL の TSB に植菌し、37℃で 18 時間静置培養した。この培養液を 4℃、5,000 rpm、15 分間遠心し、滅菌した PBS に再懸濁することを 2 回繰り返して接種菌液を作製した。試験を行うまで、これらの菌液は氷上もしくは 4℃で保管された。これら接種菌液中の菌数は Tryptone soya agar (TSA) およびクロモアガーSTEC に塗抹し、それぞれ 37℃で 24 時間および 37℃で 20 時間培養し、生育したコロニーを計測した。

### （5）消毒液の調製

酸性の消毒液として「食品、添加物等の規格基準」（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）に平成 28 年に使用基準が改正された過酢酸

製剤および酸性化した亜塩素酸ナトリウム、従前より使用が認められ指定添加物である過酸化水素、アルカリ性の消毒液として同規格基準で使用が認められ指定添加物である次亜塩素酸ナトリウム（次亜塩素酸ソーダ）、中性の消毒液として一般飲食物添加物であるエタノール（エチルアルコール）、有機酸として同規格基準で使用が認められ指定添加物である乳酸を用いた。

過酢酸製剤は「ダイヤパワー（低濃度過酢酸）

（三菱ガス化学株式会社）」（過酢酸 6%、過酸化水素 8%、酢酸 32%、水 54%）を、亜塩素酸ナトリウムは「Keeper Pro®（バイオサイド・インターナショナル社）」（高純度亜塩素酸ナトリウム 8.35%）にクエン酸（食品添加物 富士フィルム和光純薬(株)）を添加し酸性化した亜塩素酸ナトリウム水として、「過酸化水素（富士フィルム和光純薬(株)）」

（35.0 - 36.0%）は 35%とみなして、次亜塩素酸ナトリウムは「ピューラックス（株式会社オーヤラックス）」（次亜塩素酸ナトリウム 6%）を、「DL-乳酸（シグマ アルドリッチジャパン合同会社）」（85.0 - 92.0%）は 90%とみなして、滅菌した純水（滅菌水）で各濃度に希釈し、エタノールは「消毒用エタノール『コザカイ・M』」（小堺製薬株式会社）（15℃で 76.9 - 81.4 vol%）を販売濃度で供試した。なお、対照用溶液は滅菌水を用いた。

### （6）消毒液の牛肉汚染 STEC への効果の検証

#### 1) STEC 接種検体の作製

滅菌した 1 本の竹串に 1 検体を刺し、菌液を 10 μL ずつ 5 カ所（合計 50 μL）に接種し、15 分間室温保存することによって菌液を検体に浸透させた。この菌接種検体を垂直に固定した。

#### 2) 消毒液噴霧の方法

消毒液を 2 回、10 回または 60 回噴霧した。2 回（1.6 mL）噴霧では、筋膜なし検体で、過酢酸 100 ppm、200 ppm、500 ppm、1,000

ppm、次亜塩素酸ナトリウム 300 ppm、600 ppm およびエタノールで行った。10回噴霧（8 mL）では、筋膜なし検体で、過酢酸 1,000 ppm および次亜塩素酸ナトリウム 600 ppm で行い、筋膜あり検体で、過酢酸 1,000 ppm、次亜塩素酸ナトリウム 600 ppm およびエタノールで行なった。60回噴霧（48 mL）では、筋膜なし検体で、亜塩素酸ナトリウム 500 ppm、1,200 ppm および過酸化水素で行い、筋膜あり検体で、過酢酸 1,000 ppm、次亜塩素酸ナトリウム 600 ppm、エタノール、亜塩素酸ナトリウム 500 ppm、1,200 ppm および過酸化水素で行なった。

### 3) 消毒液 50 mL 浸漬の方法

菌接種検体を滅菌ピンセットで 50 mL の消毒液に沈めてから持ち上げることを 20 秒間で 10 回繰り返した。筋膜なし検体を使用し、過酢酸 100 ppm、200 ppm、500 ppm、1,000 ppm、次亜塩素酸ナトリウム 300 ppm、600 ppm およびエタノールで行った。

### 4) 消毒液 100 mL および 500 mL かけ流しの方法

菌接種検体に消毒液 20 mL をシリンジで 5 回（合計 100 mL、100 mL かけ流し）、または、50 mL をシリンジで 10 回（合計 500 mL、500 mL かけ流し）かけ流しを行った。

100 mL かけ流しでは、筋膜なし検体で、亜塩素酸ナトリウム 500 ppm、1,200 ppm および過酸化水素 3.5% で行い、筋膜あり検体で、過酢酸 1,000 ppm、次亜塩素酸ナトリウム 600 ppm、エタノール、亜塩素酸ナトリウム 500 ppm と 1,200 ppm、過酸化水素 3.5% で行った。500 mL かけ流しでは、筋膜あり検体で、過酢酸 50 ppm、100 ppm、200 ppm、500 ppm、1,000 ppm、次亜塩素酸ナトリウム 600 ppm、エタノール、亜塩素酸ナトリウム 200 ppm、500 ppm、1,200 ppm および過酸化水素 3.5% で行った。

### 5) 25°C および 55°C の消毒液 500 mL かけ流しならびにかけ流し後の洗浄方法

「洗浄なし」では、菌接種検体ごとに 25°C もしくは 55°C に加温した消毒液（過酢酸 100 ppm、200 ppm、500 ppm および乳酸 4%）50 mL をシリンジで 10 回（合計 500 mL）かけ流しを行った。「洗浄あり」では、「洗浄なし」と同様に消毒液のかけ流しを行い、消毒液の液切りを行った後に、常温（23.5 - 24.0°C）の滅菌水 50 mL をシリンジで 10 回（合計 500 mL）かけ流しを行った。

### 6) 消毒後検体中の菌数の測定

消毒後、室温で 5 分間立てた状態で消毒液または洗浄滅菌水の液切りを行った。消毒液が流れ落ちない状態になったことを確認し、各検体を竹串から外し、それぞれストマッカー一袋に入れた。検体の 10 倍量になるように滅菌済みの PBS を添加し、1 分間ストマッカーを行ったものを乳剤とした。これらの乳剤中の菌数を、「(4) 接種菌液の調製」と同様の方法で計測した。

### (7) 消毒液による肉の変色と臭味

菌を接種していない検体にて、消毒液による肉の変色と臭味を確認した。

## C. 研究結果

### 1. 牛枝肉の STEC 調査

生菌数は、504 検体のうち 40 検体で検出限界未満であり、他 464 検体での平均は 487.2 CFU/cm<sup>2</sup> であった（表 1 - 2）。ウシの種類別で比較すると、頭数が少なく、限られた施設由来ではあるが、アンガスの生菌数が 9,387.6 CFU/cm<sup>2</sup> で最も高かった。月ごとの各施設の生菌数の結果を図 1 に示す。採材期間を通して、生菌数が最も多かった施設は F 施設であった。また、施設ごとの生菌数が 1,000 CFU/cm<sup>2</sup> を超える施設は、E および F 施設であり、その生菌数はそれぞれ 1,156.7 および 3,193.0 CFU/cm<sup>2</sup> であった。月ごとの生菌数では、7 月が最も高く 5,133.4 CFU/cm<sup>2</sup>、次いで 6 月が 699.9 CFU/cm<sup>2</sup> であり、気温が高い夏に高い傾向が見られた。

STEC 7 血清群を試験した 480 検体のうち、*stx* あるいは *eae* 遺伝子の少なくともいずれかが陽性であった検体は 110 検体であり、そのうち 31 検体は *stx* および *eae* 遺伝子陽性となった検体であった。さらに、そのうち 15 検体は *stx* および *eae* 遺伝子陽性ならびに STEC 7 血清群遺伝子陽性となった (表 1-3)。これらのうち、STEC 7 血清群の分離が可能であった検体は B56、D68 および J23 の 3 検体 (3/480、0.6%) であり、全株とも血清型は O157:H7 であった (表 1-4)。これら STEC O157 が分離されたのは、2020 年 12 月に採材された D 施設の褐毛和種、2021 年 8 月に採材された E 施設の交雑種および 2022 年 6 月に採材された M 施設の黒毛和種からであった。これらの施設においては、枝肉の消毒等の適切な措置が講じられた。なお、同一施設において、検体採取時期が異なるにもかかわらず、血清型ならびに *stx* および *eae* 遺伝子保有パターンが同一の大腸菌が分離されることが散見された。

STEC O157 が分離された検体について、MPN 法にて定量したところ、その定量値は、1 検体 (D68) については 1.02 MPN/100cm<sup>2</sup> (11 MPN/100mL 検体液) であり、その他 2 検体 (B56 および J23) については検出限界未満となる 0.33 MPN/100cm<sup>2</sup> (3.0 MPN/100mL 検体液) 未満であった。

## 2. 牛肉の消毒効果の検討

### (1) 文献調査

検索の結果、31 報見つかった。効果が認められた条件 (10 報) で、比較的多い消毒液は乳酸 (8 報) および過酢酸 (2 報) であり、温度としては 55°C (4 報) であった。

### (2) 消毒液の牛肉汚染 STEC への効果

#### 1) 消毒液噴霧の効果

STEC の菌数は、2 回噴霧 (筋膜なし検体) では、消毒液で 7.0 - 8.1 log CFU/片、滅菌水で 7.3 - 7.8 log CFU/片であり (図 2-1)、10 回噴霧 (筋膜なし検体および筋膜あ

り検体) では、消毒液で 6.9 - 7.4 log CFU/片、滅菌水で 7.2 - 7.3 log CFU/片であり (図 2-2、図 2-3)、消毒液による STEC の減少効果は認められなかった。60 回噴霧では、筋膜なし検体において、消毒液で 7.0 ± 0.1 - 7.2 ± 0.1 log CFU/片、滅菌水で 7.3 ± 0.1 log CFU/片であり (図 2-4)、筋膜あり検体において、消毒液で 5.9 ± 0.6 - 6.7 ± 0.4 log CFU/片、滅菌水で 6.9 ± 0.3 log CFU/片であり (図 2-5)、消毒液による STEC の減少効果が若干認められた。

#### 2) 消毒液 50 mL 浸漬の効果

消毒液では 6.8 - 7.1 log CFU/片であり、滅菌水では 7.0 log CFU/片であり (図 2-6)、消毒液による STEC の減少効果は認められなかった。

#### 3) 消毒液 100 mL および 500 mL かけ流しの効果

消毒液 100 mL かけ流しでは、筋膜なし検体において、消毒液で 6.8 ± 0.1 - 7.1 ± 0.3 log CFU/片、滅菌水で 7.4 ± 0.3 log CFU/片であり (図 2-7)、筋膜あり検体において、消毒液で 5.7 ± 0.3 - 6.5 ± 0.2 log CFU/片、滅菌水で 6.8 ± 0.2 log CFU/片であり (図 2-8)、60 回噴霧より消毒液による STEC の減少効果が認められた。消毒液 500 mL かけ流しでは、消毒液で 4.8 ± 0.9 - 6.0 ± 0.4 log CFU/片、滅菌水で 6.6 ± 0.5 log CFU/片であり (図 2-9)、100 mL かけ流しより消毒液による STEC の減少効果が認められた。なお、牛肉に供試し、下に流れ落ちた消毒液からは STEC および生菌は検出されなかった。

#### 4) 25°C および 55°C の消毒液 500 mL かけ流しならびにかけ流し後の洗浄の効果

25°C の洗浄なしでは、消毒液で 5.4 ± 0.3 - 5.6 ± 0.6 log CFU/片、滅菌水で 6.8 ± 0.6 log CFU/片であり (図 2-10)、25°C の洗浄ありでは、消毒液で 4.7 ± 0.8 - 6.1 ± 0.6 log CFU/片、滅菌水で 6.3 ± 0.3 log CFU/片であり (図 2-11)、55°C 洗浄なしでは、消毒液

で  $5.4 \pm 1.7 - 5.7 \pm 0.5 \log \text{CFU/片}$ 、滅菌水で  $6.3 \pm 0.1 \log \text{CFU/片}$  であり (図 2-12)、 $55^\circ\text{C}$  洗浄ありでは、消毒液で  $5.2 \pm 0.3 - 5.7 \pm 0.5 \log \text{CFU/片}$ 、滅菌水では  $6.4 \pm 0.2 \log \text{CFU/片}$  であった (図 2-13)。消毒液による STEC の減少効果は認められたが、消毒液の  $55^\circ\text{C}$  加温効果は認められなかった。なお、牛肉に供試し、下に流れ落ちた消毒液および消毒液と洗浄滅菌水の混合液からは STEC および生菌は検出されなかった。

#### 5) 消毒液による肉の変色と臭味

肉表面の変色に関しては、最大濃度 1,000 ppm を使用しても過酢酸では変色は認められなかったが、200 ppm 以上で使用した亜塩素酸ナトリウム、600 ppm の次亜塩素酸ナトリウムおよび 70% エタノールではやや白色に、3.5% 過酸化水素は白色に、4% 乳酸では茶褐色に変色した。臭味に関しては、過酢酸では最小濃度 50 ppm を使用した場合でも酸臭が、亜塩素酸ナトリウムでは 200 ppm 以上を使用した場合および次亜塩素酸ナトリウムでは 600 ppm を使用した場合に塩素臭が認められたが、70% エタノールでは直後にアルコール臭が残るものの比較的すみやかに消失した。3.5% 過酸化水素および 4% 乳酸では臭味は認められなかった。過酢酸の酸臭は、過酢酸の濃度が高いほど強くなる傾向であったが、滅菌水による消毒後の洗浄によって酸臭は軽減し、 $55^\circ\text{C}$  の過酢酸では  $25^\circ\text{C}$  の過酢酸よりも消毒後の酸臭が弱かった。

### D. 考察

#### 1. 牛枝肉の STEC 調査

本調査では牛枝肉からガーゼを用い STEC 分離に供した 480 検体中、3 検体 (0.6%) から STEC7 血清群のひとつである STEC 0157 が分離された。STEC 0157 が分離された 3 検体を含む 15 検体 (3.1%) は、*stx* および *eae* 遺伝子の両方ならびに STEC 7 血清群のいずれかが陽性であった。と畜場でのウシの糞便か

らは STEC 0157 が高頻度に検出されていることと比較し、その汚染率は低率であり、衛生的な管理がなされているとされた。その一方、各年度の分離率は同等であったことならびにその定量値は検出限界未満が多かったことから、さらなる汚染低減にはその制御法の確立が課題である。

測定された生菌数は季節的な影響が大きいと考えられた。平均生菌数は 7 月が最も多く次いで 6 月、8 月であり、その他の月は生菌数が  $102 \text{CFU/cm}^2$  以下にとどまっていた。施設 E・F の生菌数が高かったこと (図 1) が要因と考えられ、夏季においては牛肉の衛生状態の低下が推察される。生菌数が高い施設では、汚染防止策などを含む衛生管理を確実に実施する必要があり、衛生状態を改善することが求められる。

*stx*、*eae* および STEC 7 血清群のいずれかの遺伝子が陽性の培養液から分離された菌株では、STEC 7 血清群ではない菌株が大部分を占めていた。同一施設において、同一の血清型ならびに *stx* および *eae* 保有パターンの大腸菌が継続的に分離されたことから、施設内での汚染あるいは特定の農場での大腸菌の保菌等が原因として疑われた。今後、これらの菌株の病原性について、検討を行う必要があると考えられた。

牛肉の STEC による汚染の低減は食の安全に関わる重要な課題となっている。と畜場での牛肉の汚染は低率であるものの、牛肉の取り扱いには十分な注意が必要である。また、と畜場での衛生管理や施設での消毒処理等は、STEC の主要な汚染防止策であることから、STEC 汚染についての調査を継続するに加えて、それらの管理や消毒方法を改良していく必要があると考えられた。

#### 2. 牛肉の消毒効果の検討

##### (1) 文献調査

比較的多い消毒条件 (10 報) すべてにおいて効果を検討し、国内の指定添加物である乳

酸は、消毒液としての効果を検討する必要があると考えた。また、効果のある温度条件で最も多かった 55℃に関しても、消毒効果の向上を期待して検討することを考えた。

#### (2) 消毒液の牛肉汚染 STEC への効果

消毒液の牛肉汚染 STEC への効果の検証では、噴霧（2回計 1.6 mL、10回計 8 mL および 60回計 48 mL）、浸漬（50 mL）およびかけ流し（100 mL および 500 mL）を行った。令和 2 および令和 3 年度で試みた噴霧では、60 回噴霧で消毒液による STEC の減少効果が若干認められた。

令和 2 年度で試みた浸漬では、60 回噴霧とほぼ同量の消毒液を用いたにもかかわらず減少効果は認められなかった。浸漬では牛肉由来の有機物による消毒液の不活性化や、酸臭および塩素臭の肉深部への浸透が考えられるため、多量の消毒液をかけ流すことにより効果が向上することを期待し、令和 3 年度では消毒液のかけ流しを試みた。この結果、100 mL かけ流しは、60 回噴霧より STEC の減少効果が認められた。また、同じ濃度では 100 mL より 500 mL かけ流しの方が STEC の減少効果が認められ、同じかけ流し量では消毒液の濃度が高い方が STEC の減少効果が高い傾向であった。

令和 2 および令和 3 年度の結果から、500 mL かけ流しが最も STEC の減少効果が認められたため、令和 4 年度でも継続して行った。また、肉色の変化がないことから過酢酸が牛肉の消毒液として最も実用的であると考えられたが、酸臭が残ることが難点であった。令和 4 年度では、文献調査によって情報収集した米国での使用状況および EU での使用許可状況を鑑みて、過酢酸だけでなく、有機酸である乳酸についても試みた。消毒効果の向上を期待して消毒液の 55℃加温、酸臭の軽減対策として消毒後の滅菌水洗浄を加えて、STEC 0157 の減少効果を試みた。ばらつきはあるが、消毒液の方（約 2 桁減少）が滅菌水のみ（約 1 桁減

少）より STEC の減少効果が認められ、消毒液による一定の効果が明らかになった。特に、過酢酸による消毒では、菌数減少効果と併せて牛肉表面を変色させない利点が明らかになった。酸臭が残ることが難点であったが、55℃に加温することによって酸臭の軽減されることが判明した。なお、55℃に加温することによる STEC の減少効果は認められなかった。

また、乳酸による消毒では、酸臭は認められなかったが、牛肉表面が茶褐色に変色した。しかし、乳酸消毒による肉質への影響はないとする報告があり、肉表面のトリミングなどによって除去できることを考慮すると、乳酸も消毒剤として実用性があると考えられる。

#### E. 結論

1. 牛枝肉の STEC 調査では、2020 年 10 月から 2023 年 1 月に食肉検査所（生菌数のみ測定の 1 カ所を除く 11 カ所）の協力のもとに牛枝肉合計 480 検体から 7 血清群（026、045、0103、0111、0121、0145、0157）の STEC を対象とした試験を行った。この結果、3 検体（0.6%）から STEC 0157 が分離され、その汚染は低率であるものの牛肉の取り扱いには十分な注意が必要であることが明らかとなった。また、さらなる汚染低減にその制御法の確立が求められる。また、2. 牛肉の消毒効果の検討では、一般に使われている酸性、アルカリ性および中性の消毒薬、ならびに有機酸から 6 種類を選定し、牛肉での STEC の消毒効果を検証した。その結果、消毒液によっては使用量を増やすことや濃度を高めることによって STEC の減少効果が認められた。また、消毒後の滅菌水洗浄は消毒液の酸臭の軽減対策として有効であった。これらの結果から牛肉の消毒に有用な消毒薬として、過酢酸があげられ、55℃に加温しての使用や消毒後の洗浄によって酸臭を軽減することで現実的に使用できると考えられる。



F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(誌上発表)

なし

(学会発表)

廣瀬昌平、都丸亜希子、穂山浩、工藤由起子。牛肉の志賀毒素産生大腸菌汚染に対する消毒液の効果の検討。日本食品衛生学会第118回学術講演会，長崎市，令和4年11月11日。

H. 知的所有権の取得状況・登録状況

なし

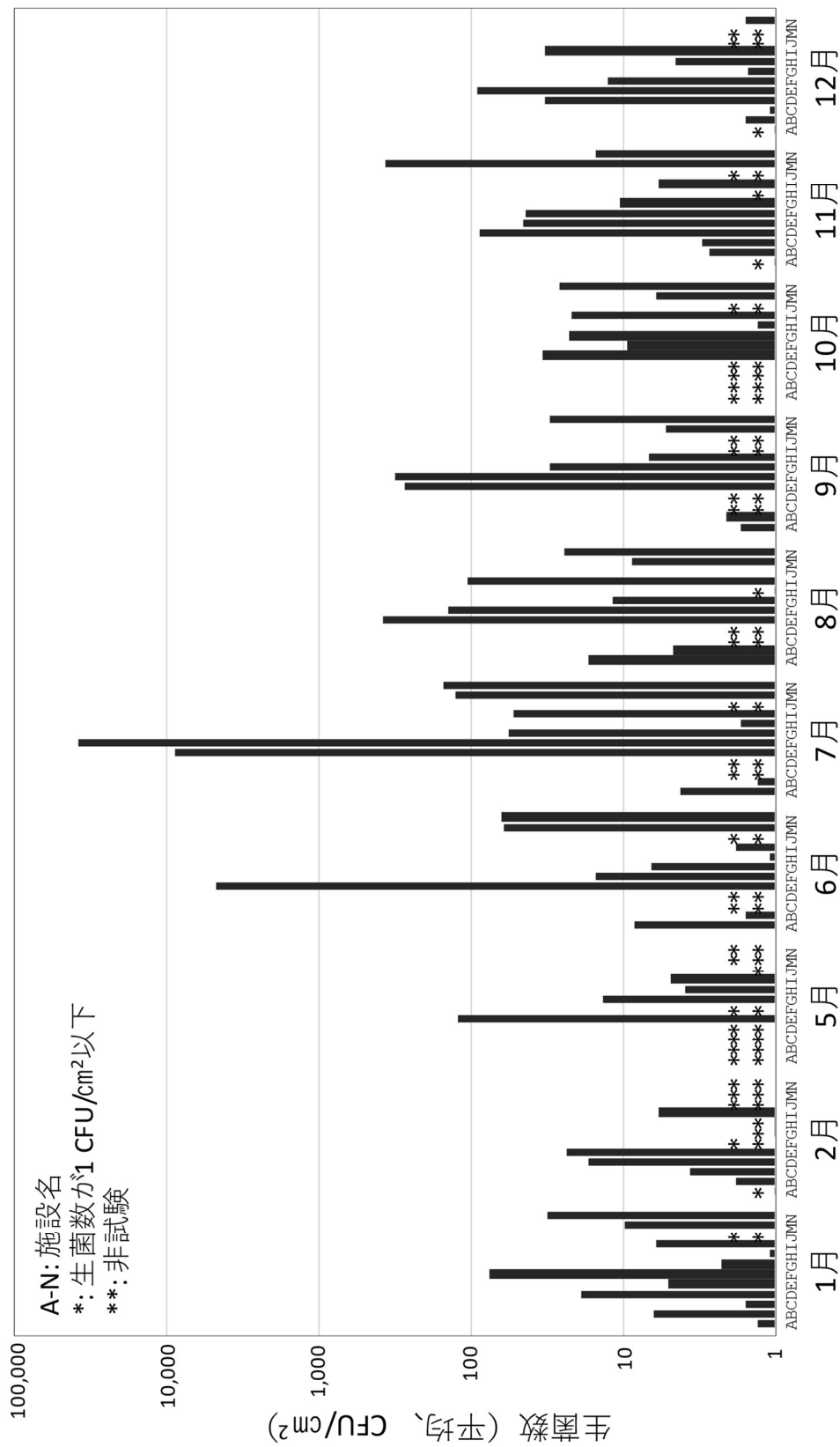


図1 月ごとの各施設の生菌数 (令和 2-4年の平均値)

表1-1 各施設の協力年度

施設 番号	協力年度		
	令和2年度	令和3年度	令和4年度
A施設	●	●	
B施設	●	●	
C施設	●		
D施設	●		
E施設	●	●	●
F施設	●		●
G施設	●	●	●
H施設		●	
I施設		●	●
J施設		●	
M施設			●
N施設			●

表1-2 ウシの種類別、性別の生菌数

		試験 個体数	生菌検出* 個体数 (%)	生菌数** (平均±SD CFU/cm <sup>2</sup> )
ウシの種類	ホルスタイン	220	196 (89.1)	777.2±6,923.2
	黒毛和種	164	151 (92.1)	27.7±105.2
	交雑種	74	71 (95.9)	34±67.9
	褐毛和種	35	35 (100)	39.5±55.2
	アンガス	7	7 (100)	9,387.6±10,936.1
	短角	3	3 (100)	4.9±7.9
	ジャージー	1	1 (100)	0.83
性別	雄	318	287 (90.3)	681.3±6,042.0
	雌	186	177 (95.2)	172.4±1,124.6
全体		504	464 (92.1)	487.2±4,805.4

SD: standard deviation

\*：非検出は、0.11 CFU/cm<sup>2</sup>未満

\*\*：検出個体のみ平均±SD

表1-3 stx 遺伝子および eae 遺伝子陽性検体の7血清群遺伝子陽性結果

年度	O血清群遺伝子							合計 検体数*
	O26	O45	O103	O111	O121	O145	O157	
令和2年	0	1	1	0	0	0	1	3
令和3年	3	3	3	0	0	0	2	5
令和4年	1	5	0	0	0	0	2	7
合計	4	9	4	0	0	0	5	15

\* 遺伝子を重複して持つ検体を含む

表1-4 大腸菌の生化学的性状

培地	性状	分離株			参考		
		検体番号	検体番号	検体番号	血清型	血清型	その他の 主な血清型
		B56	D68	J23			
		血清型	血清型	血清型			
		O157: H7	O157: H7	O157: H7	O157: H7	O157: H-	
TSI寒天	斜面	黄色	黄色	黄色	黄色	黄色	黄色
	高層	黄色	黄色	黄色	黄色	黄色	黄色
	硫化水素産生	-	-	-	-	-	-
	ガス産生	+	+	+	+	+	+
LIM培地	リジン	+	+	+	+	+	+
	インドール	+	+	+	+	+	+
	運動性	+	+	+	+	-	+

検体番号B：令和2年度、検体番号D：令和3年度、検体番号J：令和4年度

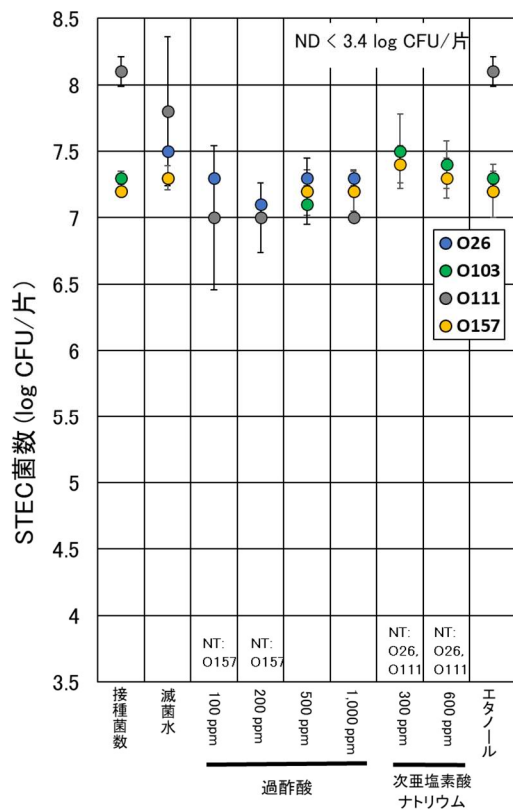


図 2-1 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(筋膜なし検体、2回噴霧)

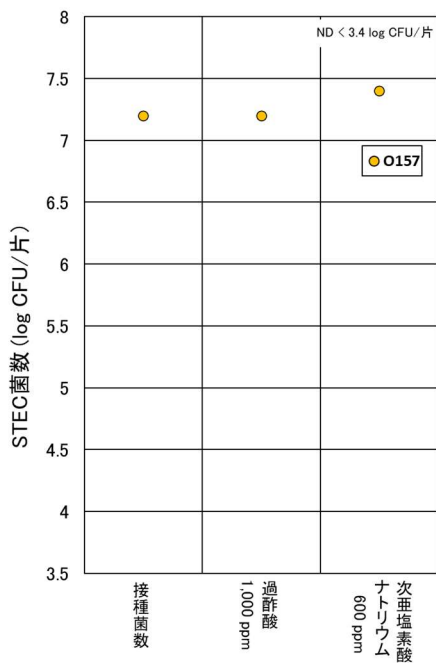


図 2-2 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(筋膜なし検体、10 回噴霧)

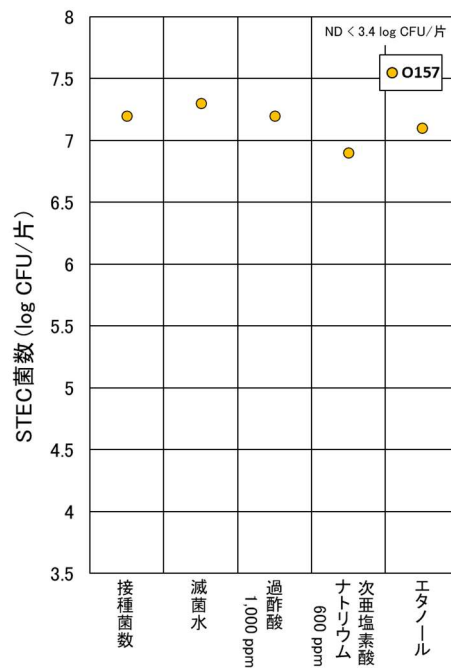


図 2-3 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(筋膜あり検体、10 回噴霧)

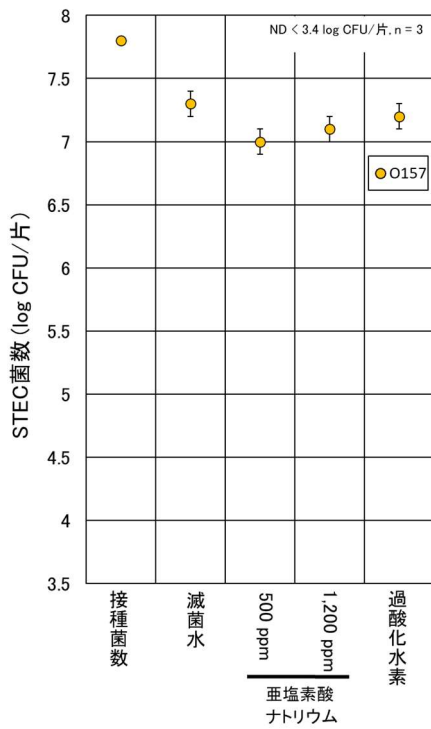


図 2-4 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(筋膜なし検体、60 回噴霧)

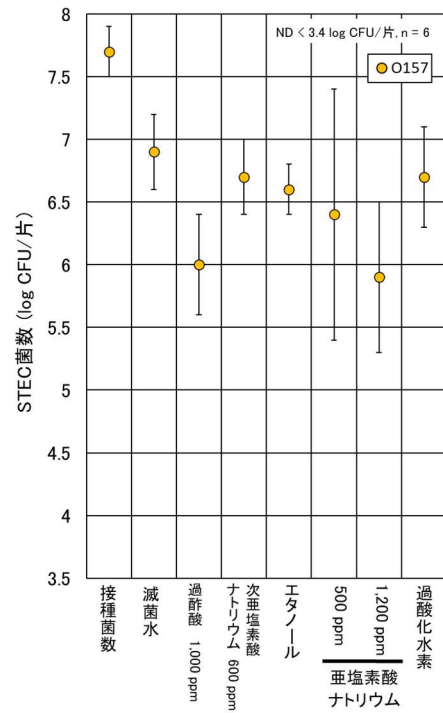


図 2-5 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(筋膜あり検体、60 回噴霧)

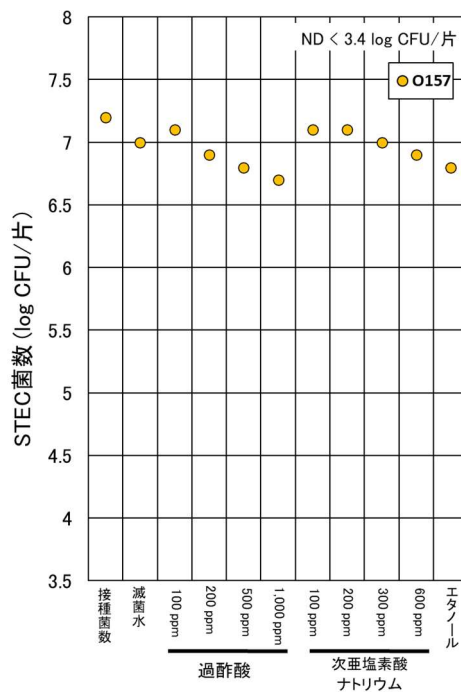


図 2-6 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(筋膜なし検体、50 mL 浸漬)

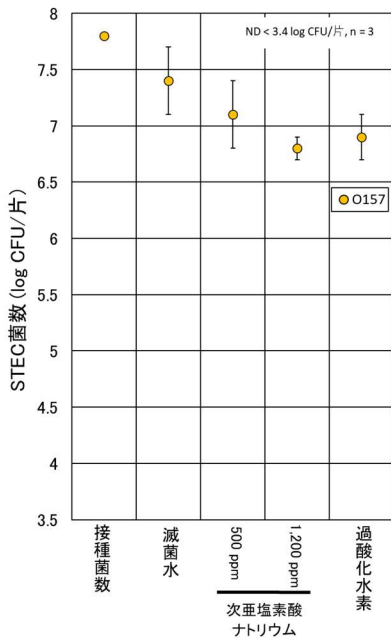


図 2-7 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(筋膜なし検体、かけ流し 100 mL)

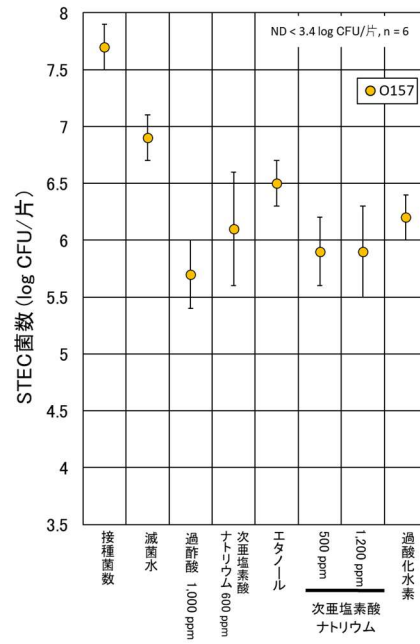


図 2-8 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(筋膜あり検体、かけ流し 100 mL)

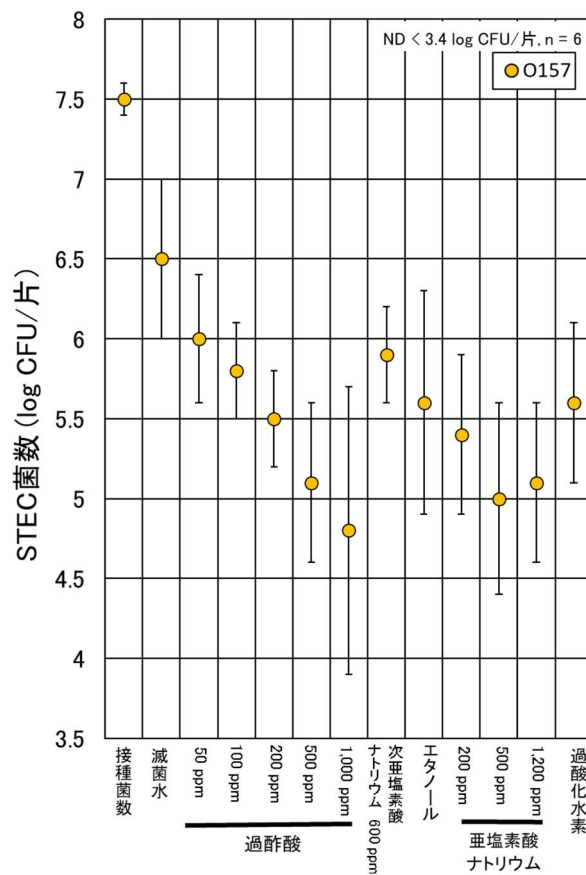


図 2-9 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(筋膜あり検体、かけ流し 500 mL)

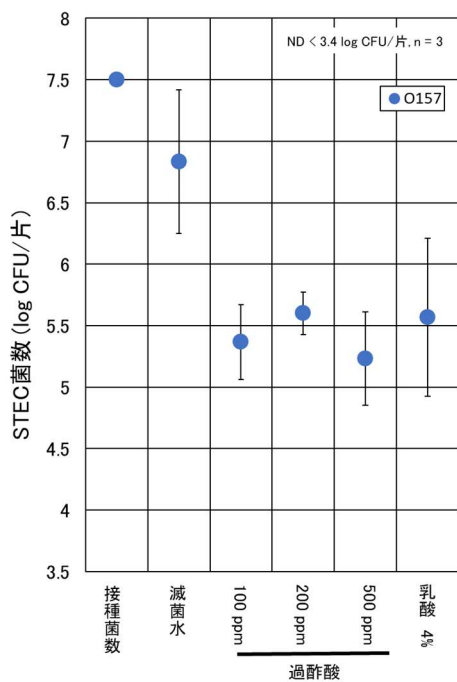


図 2-10 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(25°C、筋膜あり検体、かけ流し 500 mL)

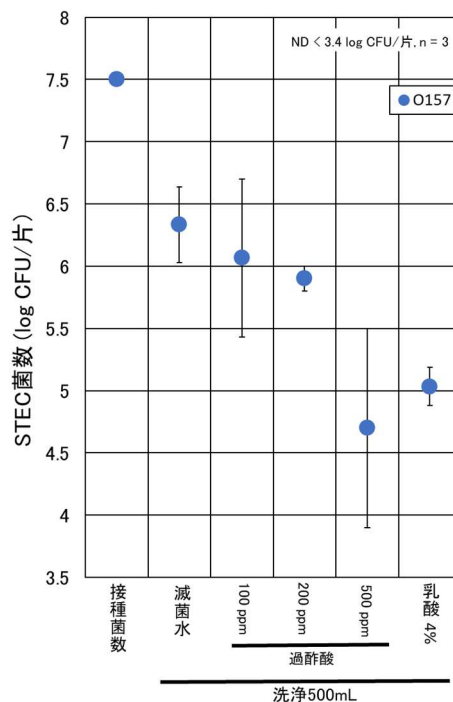


図 2-11 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(25°C、筋膜あり検体、かけ流し 500 mL、  
消毒後の洗浄滅菌水 500 mL)

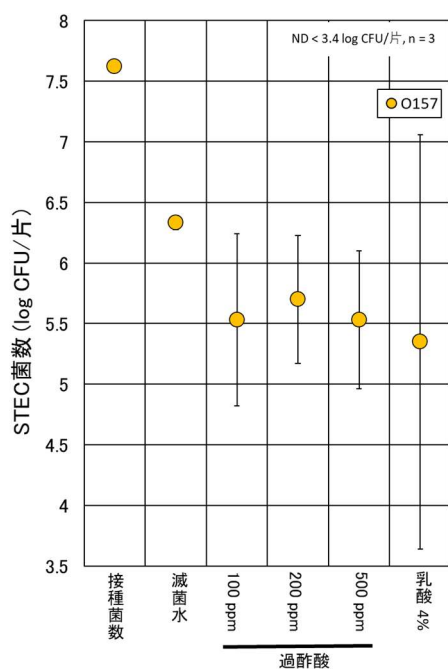


図 2-12 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(55°C、筋膜あり検体、かけ流し 500 mL)

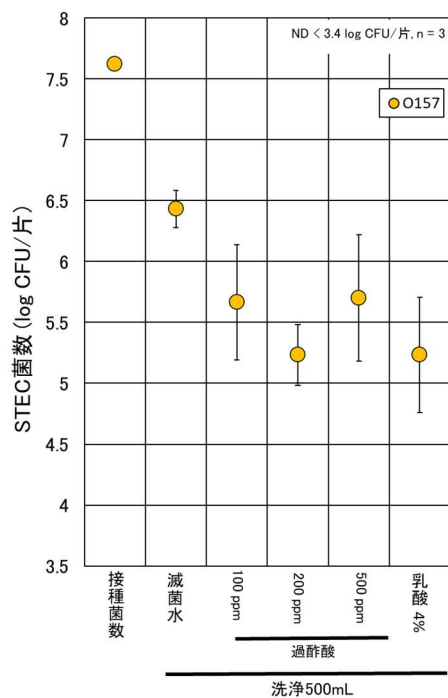


図 2-13 汚染牛肉 STEC への消毒効果の検証  
(55°C、筋膜あり検体、かけ流し 500 mL、  
消毒後の洗浄滅菌水 500 mL)